

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO
VIBRÁTIL EM *Senna sylvestris* (VELL.) I. & B.
(CAESALPINIACEAE)

DANILO ANTÔNIO CARVALHO

ORIENTADOR: PROF. Dr. PAULO EUGÊNIO A. M. OLIVEIRA

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal
de Uberlândia, para obtenção do
grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

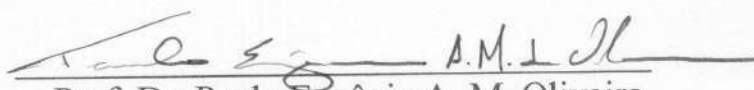
Uberlândia/MG
20/12/1999

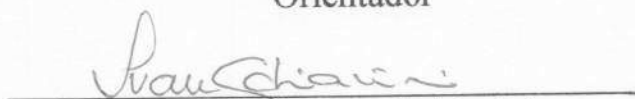
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

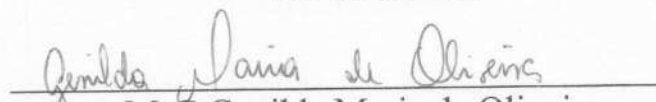
BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO VIBRÁTIL EM
Senna sylvestris (VELL.) I. & B. (CAESALPINIACEAE)

DANILO ANTÔNIO CARVALHO

Aprovada pela Banca examinadora em 20 / 12 / 99 Nota 100


Prof. Dr. Paulo Eugênio A. M. Oliveira
Orientador


Prof. Dr. Ivan Schiavini
Co-orientador


MsC Genilda Maria de Oliveira
Co-orientador


Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Profa Ana Maria Coelho Carvalho
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Uberlândia-MG
20/12/1999

Agradecimentos,

Bom . . . agradeço primeiro a DEUS, por proporcionar-me a felicidade de viver intensamente cada dia maravilhoso de minha vida. Ao mesmo tempo poder desfrutar e estudar um fragmento dos mistérios deste planeta. Obrigado Senhor por dar-me esta missão. . .

Aos grandes amigos que fiz aqui durante esses quatro anos. Com eles aprendi qual o valor de uma verdadeira amizade. O verdadeiro amigo é aquele que mesmo sabendo todos os seus defeitos, continua sendo seu melhor amigo.

Ao prof. Paulo Eugênio, que com paciência e profissionalismo dava as "dicas" e os puxões de orelha (" . . . vocês tem que ler mais . . ."), com isso deu-me oportunidade, confiança e os moldes para ser um pesquisador. Paulo, valeu pelos papos durante as idas para o Panga e em cima do andaime (aliás é ótimo brincar de montanhista) além de você ser um excelente orientador é um grande amigo.

Aos meus co-orientadores Ivan e Genilda, que me ensinaram e ensinam os caminhos da pesquisa, apoiando-me, abrindo caminhos e novas oportunidades. À vocês grandes profissionais da Biologia, meu muito obrigado.

À minha família, vovó Elvira, meu pai Donizete, meus irmãos Anna Flávia, Daniel e, meu sobrinho Gabriel. Vocês são o que tenho de mais precioso, amo vocês !!!

À Carla, que viveu comigo nestes quatro anos de luta dando-me apoio, força e incentivo para chegar até aqui. Você sempre está comigo pois o verdadeiro amor agente sempre leva para qualquer lugar onde formos. Te adoro.

Dedico em especial esta página a uma pessoa maravilhosa, que Deus em sua eterna bondade me pôs em seu caminho.

Uma mulher a quem admiro por sua força, onde nos momentos mais difíceis consegue levar alegria a todos em sua volta.

Uma mulher que não simplesmente me deu a vida, mas deu-me amor e educação, fazendo com que eu me tornasse quem sou.

Mãe dedico tudo a você que nas dificuldades me ajudou de todas as maneiras possíveis e impossíveis, somos vitoriosos EU e VOCÊ.

*Esse é um pequeno passo para os grandes saltos que quero realizar. Dizem que atrás de um grande homem sempre existe uma grande mulher pois é verdade. Sou grande (no tamanho) mas você mãe, foi quem me guiou e me fez chegar até aqui. TE AMO muito
minha mãe*

"A coisa mais incompreensível do mundo é que ele é compreensível. . . "

Einstein, A.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS.....	5
Área de estudo.....	5
A espécie estudada.....	9
Biologia floral.....	9
Os visitantes.....	10
Sistema reprodutivo.....	11
RESULTADOS.....	13
Biologia Floral.....	13
Viabilidade polínica e receptividade estigmática.....	14

Visitantes.....	15
Biologia Reprodutiva.....	20
DISCUSSÃO.....	23
Biologia Floral.....	23
Biologia Reprodutiva.....	27
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Mapa de localização da Estação Ecológica do Panga e formações vegetacionais predominantes na área da Estação. Adaptado de SCHIAVINI & ARAÚJO, 1989.....	7
FIGURA 2: Diagrama climático do município de Uberlândia, no período de Maio de 1998 a Maio de 1999. (dados do 5º Distrito de Meteorologia da estação Ecológica do Parque do Sabiá de Uberlândia-MG).....	8
FIGURA 3: Estames e pistilo de <i>S. sylvestris</i> (escala gráfica: 1 mm).....	17
FIGURA 4: Pistilo mostrando pêlos ao longo do estilete (escala gráfica: 1 mm).....	18
FIGURA 5: Visão geral da flor, mostrando os estames e pistilo.....	19
FIGURA 6: Corte longitudinal mostrando peças florais e hipanto.....	19
FIGURA 7: Fenofases da flor, desde botão até início do desenvolvimento do fruto.....	19
FIGURA 8: Observações de viabilidade polínica em <i>Senna sylvestris</i> . Grãos de pólen de uma antera pequena (40x).....	19
FIGURA 9: Observações de viabilidade polínica. Grãos de pólen de uma antera grande, mostrando o citoplasma corado por carmim acético (40x).....	19
FIGURA 10: Visita de <i>Augochloropsis</i> sp., considerada como polinizador efetivo de <i>S. sylvestris</i> . Nesta posição a abelha vibra o corpo levando as vibrações para as anteras, realizando a polinização.....	19

- FIGURA 11: Observações dos pistilos e germinação dos grãos de *Senna sylvestris* após tratamentos de polinização manual. Grãos de pólen germinando na papila estigmática 24 h após tratamento de polinização cruzada (4x); Escala gráfica correspondente de 250 μ m.....22
- FIGURA 12: Deposição de calose ao longo do tubo polínico (20x); Escala correspondente gráfica 50 μ m.22
- FIGURA 13: Detalhe da penetração de um tubo polínico no óvulo (40x);. Escala gráfica correspondente a 25 μ m.22
- FIGURAS 14-15: Tubos polínicos de polinização cruzada e autopolinização penetrando nos óvulos 48 h após tratamento (20x); Escala gráfica correspondente 25 μ m.22
- FIGURA 16: Morfologia de estigma mostrando forma crateriforme e pêlos em sua volta (4x). Escala gráfica correspondente 250 μ m.22

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1: Resultados dos testes de polinização controlada em <i>Senna sylvestris</i>	21
--	----

RESUMO

BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO VIBRÁTIL EM *Senna sylvestris* (Vell) I. & B. (CAESALPINIACEAE).

A antera com deiscência poricida ocorre na maioria das espécies da subtribo *Cassiinae* (Caesalpinaceae), sendo necessário a vibração das peças florais masculinas ("buzz pollination") pelos visitantes, para que o pólen seja retirado das tecas. A adaptação morfológica desta subtribo traz vantagens adaptativas a espécie, pois evita que o pólen seja perdido durante chuvas, ventos e outros fatores.

O objetivo do trabalho foi verificar o sistema reprodutivo e os visitantes de *Senna sylvestris*, que apresenta as características morfológicas da subtribo e pertence à subtribo *Cassiinae*.

A coleta de dados foi realizada na Estação Ecológica do Panga, pertencente a Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia MG durante os meses de fevereiro e março de 1999. *Senna sylvestris* possui em média 4m de altura e ocorre nas bordas da mata de galeria e cerradão. Testou-se o sistema reprodutivo através de polinizações controladas e naturais em 10 indivíduos presentes nas duas fitofisionomias, observou-se a duração da flor, a atividade e comportamento dos visitantes e, foram feitos testes de pós-polinização em laboratório.

Os resultados mostraram que *S. sylvestris* é uma espécie auto-incompatível (ISI= 0.06), sendo que somente as polinizações cruzadas desenvolveram frutos (24.09% n=83). Os testes de microscopia de fluorescência mostraram que os tubos polínicos cresceram até a sua entrada no ovário e a penetração nos óvulos. Isso ocorreu nos teste de autopolinização e polinização cruzada, demonstrando que o interrompimento da fertilização ocorre a nível embrionário. Os visitantes mais freqüentes foram abelhas do gênero *Augochloropsis* sp, e a abelha *Bombus morio* foi um visitante ocasional. O horário das visitas variava entre 10:00h. e 13:30h. Ambas coletam pólen por vibração das anteras ("buzz pollination"). Abelhas do gênero *Trigona* pilham o pólen predando as anteras, as visitas destas abelhas eram entre 7:30 h e 10:00 h, coincidindo com o horário em que as anteras estavam úmidas e fáceis de serem cortadas por seu aparelho bucal.

A adaptação à polinização por vibração das anteras foi uma evolução morfológica da subtribo *Cassiinae*, que significou maior eficiência na reprodução da planta, uma vez que a floração desta espécie ocorre na estação chuvosa e o gasto com a alocação de recursos com o pólen poderia ser perdido. A xenogamia em *S. sylvestris* demonstra a eficiência dos polinizadores

em se deslocar por grandes distâncias permitindo que haja, um aumento no fluxo gênico entre os indivíduos da espécie. E seu sistema de incompatibilidade de ação tardia mostram a complexidade da formação estrutural destas comunidades de plantas.

Introdução

A estacionalidade climática e a deficiência nutricional dos solos do Cerrado são fatores que caracterizam as formações vegetais deste bioma (Eiten 1994). O Cerrado é a segunda maior formação vegetal do Brasil, superado apenas pela Amazônia.

Suas formas vegetacionais são divididas em formações florestais, savânicas e campestres; cada uma pode ser subdividida, usando o ambiente, a fisionomia e a composição florística como critérios para sua separação (Ribeiro & Walter 1998).

As plantas, por serem organismos estáticos, necessitaram desenvolver estruturas e estratégias, para que pudessem atrair animais que servissem como polinizadores. Parâmetros florais como cor, forma, tamanho e odor têm importantes implicações na atração e eficiência do sistema de polinização da planta (Dafni 1992, Endress 1994, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988).

Dessa forma, estudos nas comunidades florestais (Bawa 1974, Bawa 1990, Oliveira 1991), têm mostrado a heterogeneidade da estrutura genética e destacam a complexidade dos processos de adaptação existente nas comunidades vegetais tropicais.

Estudos da biologia reprodutiva e polinização são importantes, porque podem dar informações sobre os mecanismos de estabelecimento das plantas (Bawa 1990, Oliveira 1991), bem como dos processos evolutivos e adaptativos que envolveram a história natural dessas comunidades.

Um grupo de plantas que tem recebido importante destaque dentro das comunidades florestais do Cerrado, tem sido a família das leguminosas.

As leguminosas ocupam uma posição importante entre as angiospermas e estão bem representadas nos dois hemisférios (Arroyo 1981). Um grande sucesso evolutivo acompanha as leguminosas, principalmente no que diz respeito aos mecanismos bióticos de polinização, dispersão e coevolução com os Hymenoptera (Arroyo 1981, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988, Oliveira 1991).

Arroyo (1981) afirma que as leguminosas possuem sistemas de polinização variados, comumente envolvendo autoincompatibilidade gametofítica. Isso indica que o sucesso reprodutivo e a estrutura genética das populações estão intimamente relacionados com a habilidade dos polinizadores em se deslocarem no ambiente, entre os indivíduos das espécies. As leguminosas são exemplos da complexidade das interações mutualísticas nas comunidades vegetais tropicais.

A subtribo *Cassiinae* (Caesalpiniaceae) é um grupo de leguminosas da subfamília Caesalpinoideae que inclui espécies anteriormente reunidas no gênero *Cassia* (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988). Este grupo está entre as Angiospermas que possuem anteras com deiscência poricida. Dentro das angiospermas, a maioria das espécies tem deiscência longitudinal, mas aproximadamente de 15.000 a 20.000 espécies apresentam essa forma especializada de liberação de pólen (Buchmann 1983).

As estruturas florais das espécies de *Cassiinae* já foram bem detalhadas em vários estudos (Owens 1985, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988, Dulberger et al. 1994), que têm tratado principalmente da evolução dos mecanismos morfológicos que estão intimamente ligados com a sua polinização.

O gênero *Senna* (Caesalpiniaceae) possui flores características de deiscência poricida, e as espécies deste gênero estão bem representadas no Cerrado. Mendonça et al. (1998) registraram 36 espécies de *Senna*, estando elas distribuídas em matas de galeria e ciliares, campos rupestres, cerrado e cerradão. Nota-se, porém, que estudos sobre a biologia reprodutiva ainda são limitados. Barbosa (1997) fez observações sobre a fenologia e os visitantes de *Senna macranthera*, enquanto Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger (1988) estudaram a evolução das estruturas morfológicas de espécies dos gêneros *Cassia*, *Senna*, *Chamaecrista*. Entretanto, não foi estudado o sistema reprodutivo de nenhum desses gêneros pelos pesquisadores.

Senna sylvestris (Vell) I & B (Caesalpiniaceae) é uma leguminosa encontrada em bordas de matas de galeria, cerradão e cerrado. Trazer informações sobre a biologia reprodutiva de *Senna sylvestris*, torna-se importante uma vez que o gênero é bem representado em levantamentos florísticos no bioma do Cerrado (Mendonça et al. 1998). Esses dados poderão ainda ser utilizados para programas de recuperação e manejo de áreas degradadas bem como na conservação de espécies nativas da região do Cerrado.

Este trabalho, teve como objetivo obter informações sobre a Biologia Reprodutiva de *Senna sylvestris* (Vell.) I & B, de forma a subsidiar estudos mais gerais sobre a biologia reprodutiva das comunidades florestais do Brasil Central. Como objetivos específicos foram estudados os eventos de polinização, floração e o sistema reprodutivo, destacando interações dos agentes polinizadores e dispersores.

Material e métodos

ÁREA DE ESTUDO

A pesquisa foi realizada na Estação Ecológica do Panga (EEP), pertencente à Universidade Federal de Uberlândia e localizada no município de Uberlândia, MG.

A estação abrange uma área de 409,5 ha e está a 30 km do centro do município. As coordenadas geográficas são 19°09'20" - 19°11'10" de latitude sul, e 48°23'20" - 48°24'35" de longitude oeste, e a altitude é de 800m acima do nível do mar. Na área, são encontradas fisionomias vegetais típicas do bioma Cerrado predominante no Brasil Central (Schiavini & Araújo 1989) (FIGURA 1). A região possui clima Aw, com invernos frios e secos e verões quentes e úmidos (Schiavini & Araújo 1989). Os dados climáticos (precipitação e temperatura) foram relativos ao período de maio de 1998 a maio de 1999 (FIGURA 2).

Este trabalho se integra a um grande projeto de pesquisa denominado PROMATA (Projeto Integrado de Estudos Ecológicos em Formações Florestais do Brasil Central) que conta com o apoio financeiro do CNPq, FAPEMIG e do Banco Mundial, onde vem sendo estudados os processos de biologia reprodutiva e estruturação de comunidades florestais.

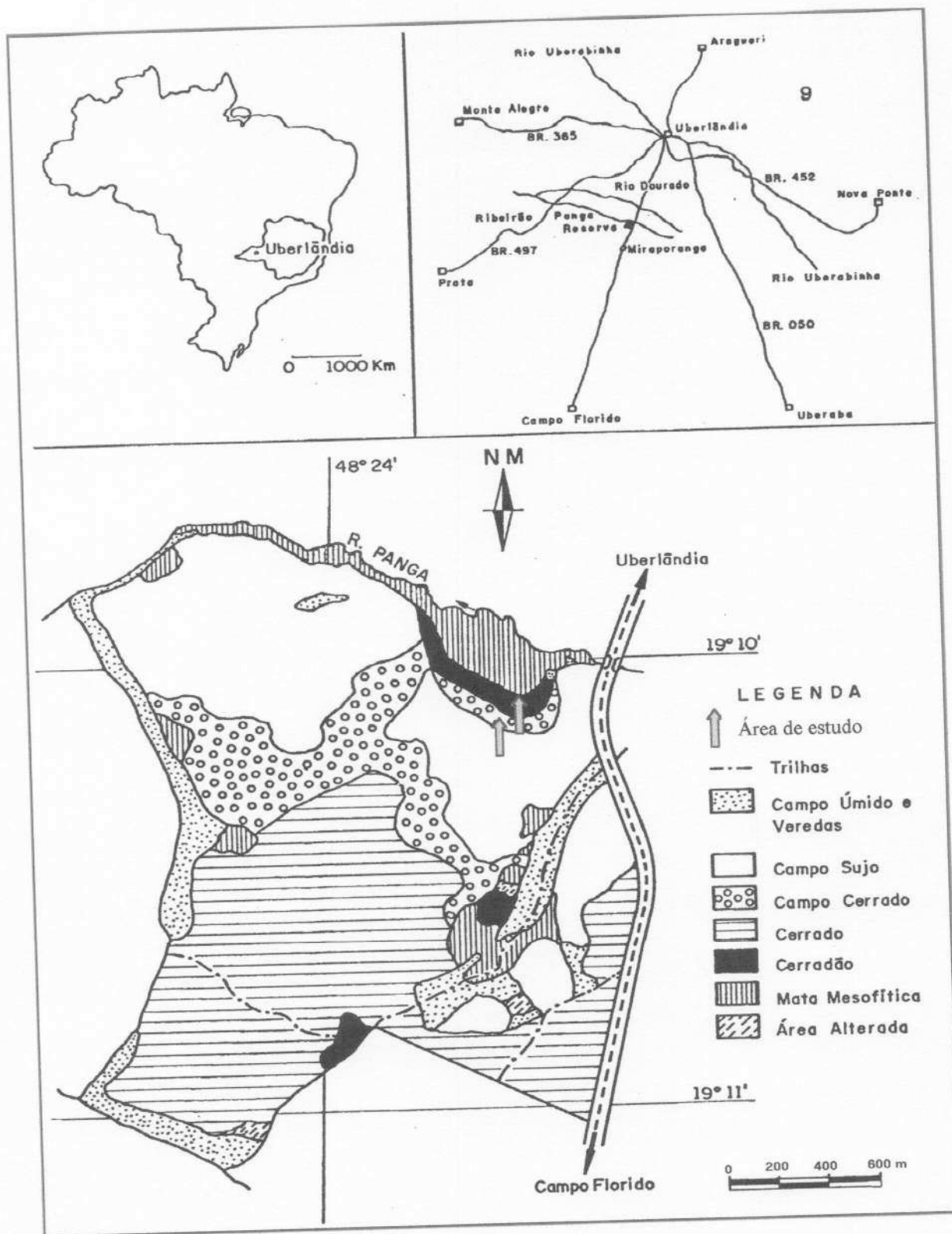


FIGURA 1: Mapa de localização da Estação Ecológica do Panga e formações vegetais predominantes na área da Estação. Adaptado de SCHIAVINI & ARAÚJO (1989). A seta indica a área onde foi realizado o estudo.

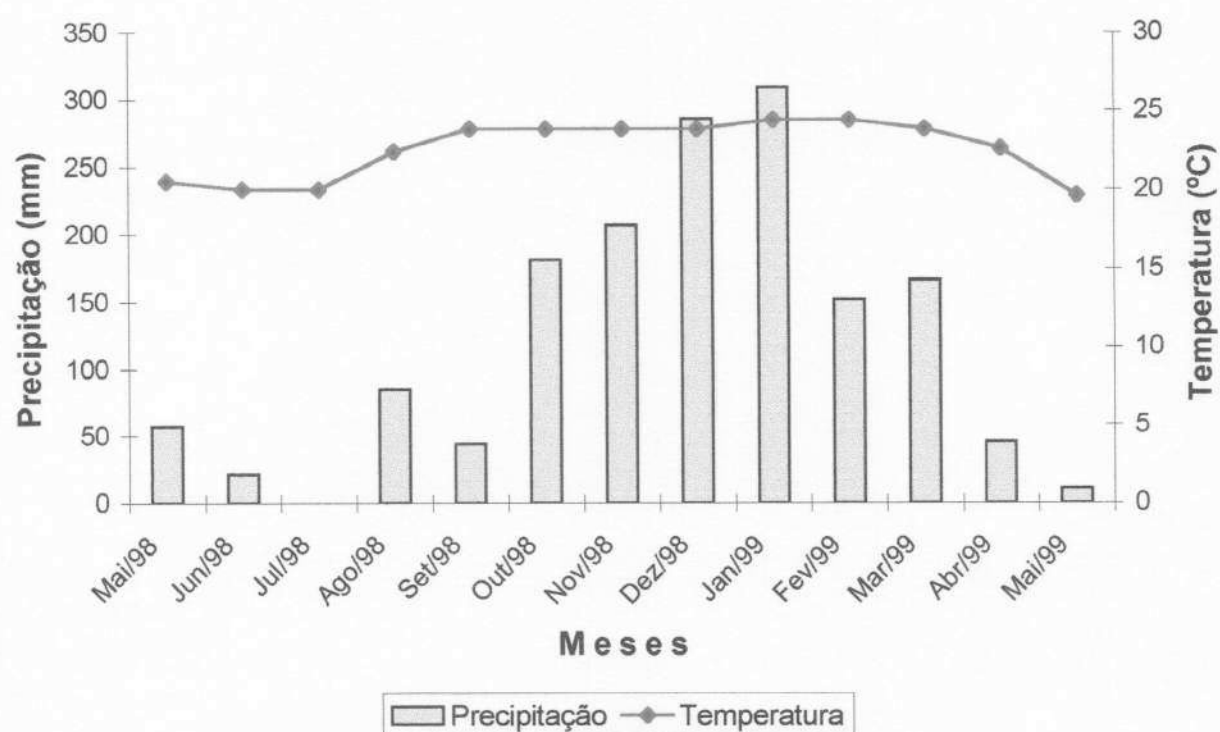


FIGURA 2: Diagrama climático do município de Uberlândia, compreendendo o período de Maio de 1998 a Maio de 1999 (Dados do 5º Distrito de Meteorologia da Estação Parque do Sabiá de Uberlândia-MG).

A ESPÉCIE ESTUDADA

Senna sylvestris (Vell.) I & B, possui hábito arbóreo de 2 a 4m, seu tronco é fino e liso, as folhas são compostas paripenadas. A floração ocorre de Janeiro a início de Maio. Foram acompanhados 10 indivíduos que eram encontrados freqüentemente no cerradão e, ocasionalmente na borda da mata de galeria.

BIOLOGIA FLORAL

Com o objetivo de caracterizar morfologicamente botões e flores, foram realizadas várias coletas em diferentes estágios deste material, que foi fixado em álcool 70% para análise posterior. Foram feitos desenhos para mostrar a forma, o arranjo das flores e das peças florais. Foi realizado registro fotográfico para caracterização da morfologia floral das flores.

Os estudos de biologia floral foram realizados com observações no campo de botões e flores. O horário da antese, duração da flor, receptividade estigmática, viabilidade polínica e recompensa para os visitantes, foram seguidas para diversas flores de indivíduos diferentes. A determinação da receptividade estigmática foi feita em laboratório, com estigmas de flores em pré-antese e flores abertas. Essas receberam algumas gotas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Kearns & Inouye 1993). A liberação de bolhas de O_2 indicaram a receptividade do estigma.

Foi utilizada técnica de coloração com carmin acético (Radford et al. 1974) para verificar a viabilidade dos grãos de pólen nos diferentes grupos de anteras. Para isso, os grãos de pólen foram retirados das anteras de cinco flores com auxílio de estiletes e espalhados em três lâminas (uma para cada tipo de antera), em seguida foi colocada uma gota do corante e então, eram levadas para microscópio óptico. Foram contados ao acaso os trezentos primeiros grãos visualizados no microscópio, qualificando-os em viáveis e inviáveis.

Parte do material coletado foi herborizado e registrado no herbário da Universidade Federal de Uberlândia (HUFU) sob os números 18.576, 18.577 e 18.578.

OS VISITANTES

O comportamento dos visitantes florais e a forma de coleta de pólen foram periodicamente observados durante a manhã de 7:00 h até 13:00 h. A caracterização de quais insetos eram os polinizadores efetivos, foi feita segundo o comportamento durante as visitas. Assim, os visitantes foram divididos em três categorias: pilhadores, polinizadores e visitantes ocasionais. Os insetos foram fotografados, coletados e montados para identificação. A identificação até nível de gênero, fez-se por comparação com coleções da Universidade Federal

de Uberlândia e, posteriormente o material foi enviado para identificação por especialista.

Sistema reprodutivo

O sistema reprodutivo da espécie foi estudado através de testes de polinizações manuais controladas. Para isso, os botões florais em pré-antese foram isolados em sacos de organza no dia anterior a abertura da flor, para que não houvesse interferência dos visitantes. Os grãos de pólen foram retirados abrindo-se a antera sobre uma lâmina de vidro limpa e então, o pólen era utilizado nas polinizações.

Além disso, outras flores foram marcadas para se verificar a ocorrência de polinizações em condições naturais.

Os testes realizados foram os seguintes:

- Autopolinização manual: grãos de pólen foram depositados com o auxílio de pinças sobre o estigma da própria flor;
- Autopolinização automática: a flor foi somente ensacada e assim ficou até a queda das pétalas;
- Polinização cruzada manual: os grãos de pólen de um indivíduo foram transferidos para o estigma de outro indivíduo receptor de pólen;

- Agamospermia (formação de frutos sem fecundação): os botões em pré-antese foram emasculados (retirados os estames) e, mantidos ensacados sem receber pólen;

Após os tratamentos, as flores foram novamente ensacadas e os sacos foram retirados após a queda das pétalas. Os frutos formados nos testes de autopolinização e polinização cruzada definiram o sistema reprodutivo da espécie. O índice de auto-incompatibilidade - ISI (*sensu* Bullock 1985), foi calculado pela razão entre os percentuais de formação de frutos de autopolinizações e polinizações cruzadas manuais.

Algumas flores submetidas aos testes autopolinização e polinização cruzada, foram coletadas 24 h e 48 h após a antese e foram fixadas em FAA 50% para observação de crescimento de tubos polínicos em microscopia de fluorescência (adaptado de Martin 1959).

Resultados

BIOLOGIA FLORAL

Na EEP, *Senna sylvestris* encontra-se distribuída de forma irregular na borda da mata de galeria e no cerradão, sendo que, alguns indivíduos podem ocorrer em cerrados abertos.

A floração iniciou-se na terceira semana do mês de janeiro de 1999 e, terminou no início de maio de 1999. A antese das flores é diurna e ocorre lentamente desde a madrugada, a partir das 4:00 h, até a abertura total da flor aproximadamente às 7:30 h. A flor tem duração de um dia e após, as pétalas caem deixando apenas o pistilo e as anteras que também caem após dois dias da abertura da flor. *Senna sylvestris* possui inflorescências em forma de panícula com botões terminais, flores zigomorfas, heterânteras. O estigma é papiloso do tipo crateriforme.

S. sylvestris possui três grupos de estames bem caracterizados quanto a sua estrutura e forma. Um grupo com quatro anteras curtas, que estão posicionadas abaixo de duas anteras maiores. Entre essas anteras maiores há uma antera delgada bem diferenciada. As flores tem em média 3,0cm de diâmetro (n=5), os estames maiores possuem aproximadamente 1,37cm (n=5), os estames menores 0,79cm (n=6), sendo que o pistilo possui 1,17cm (n=4) (FIGURAS 3-7).

VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE ESTIGMÁTICA

O teste de viabilidade dos grãos de pólen, mostrou que todos os grupos de estames são potencialmente férteis pois, o citoplasma de todas amostras mostraram-se coradas com carmim acético (Figura 8-9).

Os grãos de pólen dos três morfos das anteras coraram seu citoplasma com intensidade diferente. Aqueles das anteras grandes, apresentaram uma coloração mais acentuada que os grãos de pólen da antera média e do grupo de anteras pequenas, que possuem um citoplasma com grande vacúolo.

Os grãos de pólen foram submetidos a teste com solução de Glicerina, para verificarmos se algum dos grupos de estames poderia fornecer amido em seu citoplasma, o que representaria a diferença na preferência das abelhas pelos diferentes grupos de estames. Os resultados mostraram que não haviam grânulos de amido aparentes no citoplasma dos grãos de pólen.

Quanto ao teste de receptividade estigmática, nota-se que a partir do botão em pré-antese até a flor aberta após 24 h, o estigma de *S. sylvestris* mantêm-se receptivo, apresentando nesses estágios uma grande formação de bolhas, que caracteriza a atividade de peroxidásica.

Frutos em desenvolvimento foram observados durante os estudos de campo. Esses são secos, deiscentes do tipo legume, com aproximadamente 20cm e crescem concomitantes a floração. Os frutos maduros se abriram nos meses de junho e julho no ano de estudo liberando as sementes. Grande parte dos frutos formados foram predados, o que comprometeu a dispersão das sementes.

VISITANTES

Após as 7:30 h observam-se visitas de abelhas *Trigona spinipes*. Essas abelhas predam o grupo estames de tamanho curto e o estame mediano que está entre os estames de maior tamanho. O atrativo principal para as Trigonas é o pólen, que é retirado pela manhã entre 7:30 h e 10:00 h. Essa preferência parece estar associada com a facilidade que as abelhas encontravam em recortar as anteras que ainda estavam úmidas pelo orvalho matinal e eventuais chuvas durante a noite.

Por volta das 10:00 h observam-se visitas de abelhas *Augochloropsis* sp., que foram consideradas polinizadores efetivos de *Senna sylvestris* na área de estudo.

Durante a manhã, enquanto a temperatura aumenta, os estames vão ficando mais secos e as fendas apicais abrem-se. O início das visitas é após as 10:00 h, o que coincide com a maior disponibilidade de pólen. O pico de atividade dessas abelhas é entre 11:00 e 12:30 h aproximadamente. Após esse horário as visitas são menos freqüentes.

Augochloropsis sp. visita de quatro a cinco flores aproximadamente em cada indivíduo observado. A abelha pousa sobre uma das pétalas e caminha para as uma das anteras maiores que estão no mesmo nível do estigma. Sobre a antera a abelha vibra seu abdômem, provocando a vibração da antera. São realizadas em média cinco vibrações e, após cada atividade, a abelha limpa seu corpo levando o pólen para as curbículas e volta a visitar outras flores (FIGURA 10).

Bombus sp. foi um visitante ocasional em *S. sylvestris*, pois foi observado apenas uma visita dessa abelha durante todo o estudo.

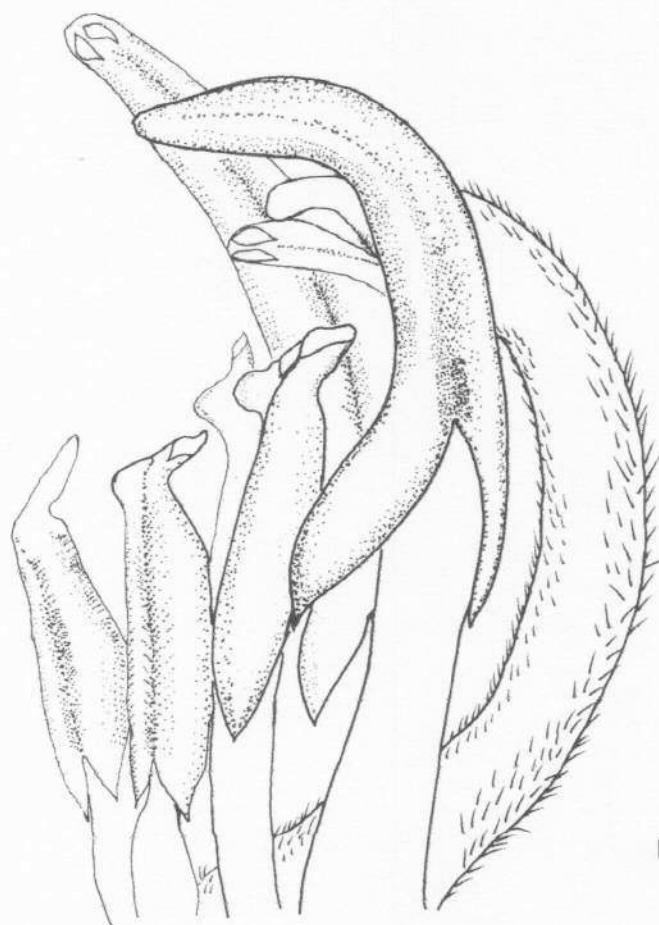


Figura 3 Estames e pistilo de *Senna sylvestris* (escala gráfica 1 mm)

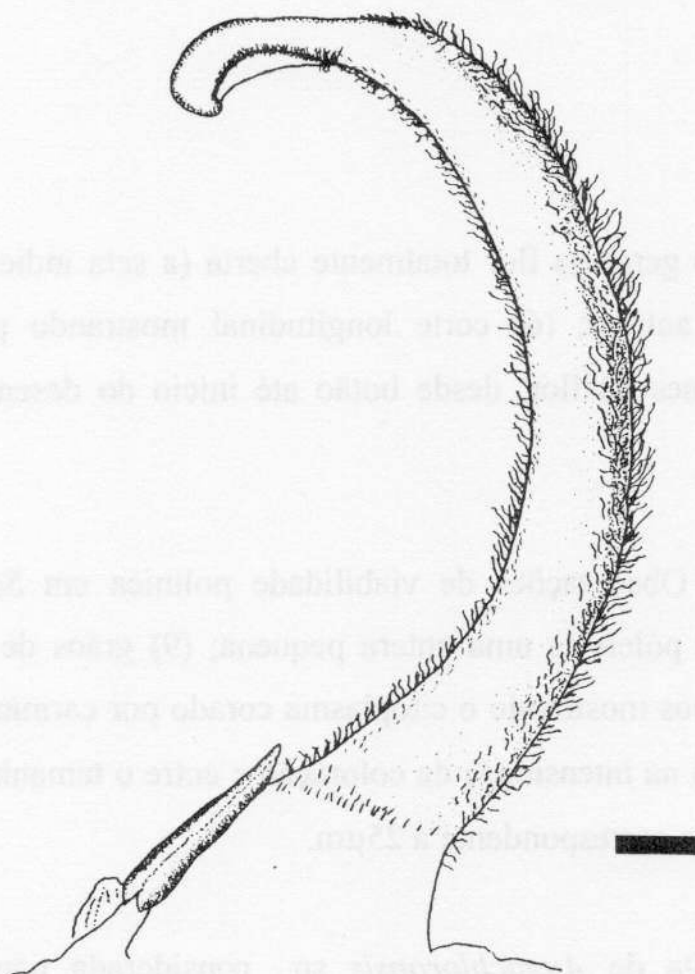
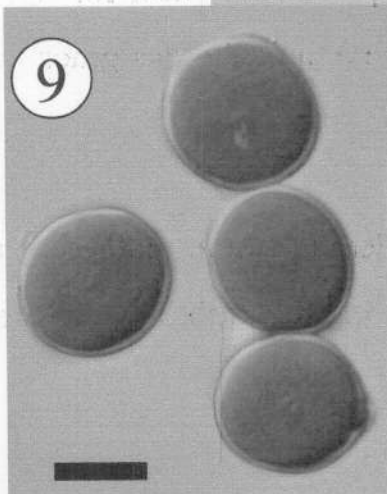
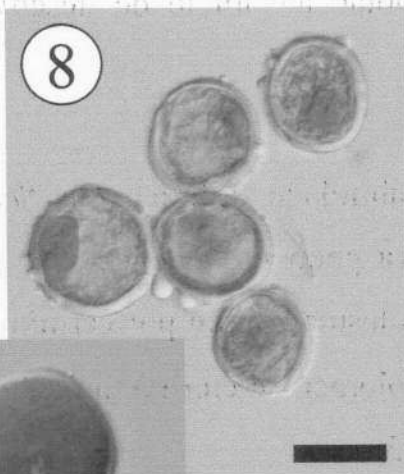
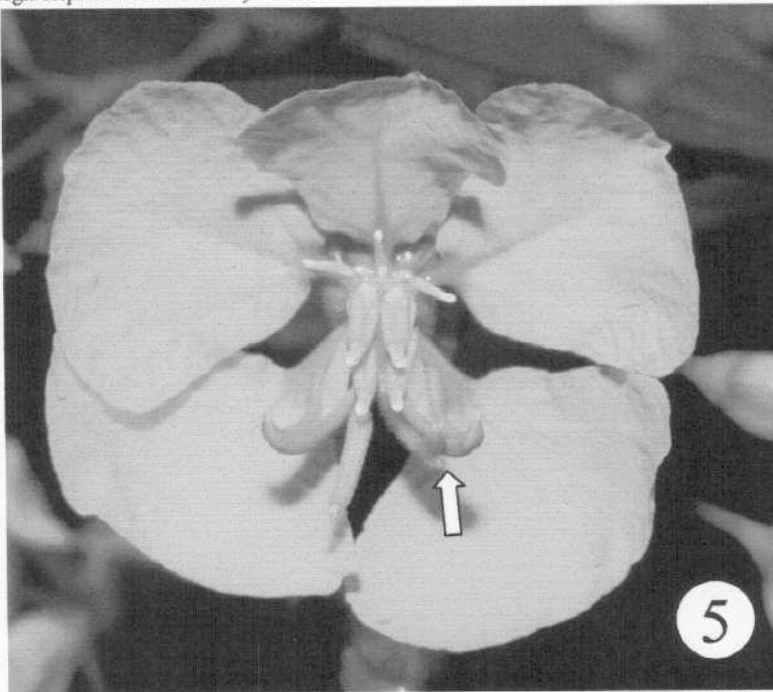


Figura 4: Pistilo mostrando pêlos ao longo do estilete (escala gráfica 1 mm)



BIOLOGIA REPRODUTIVA

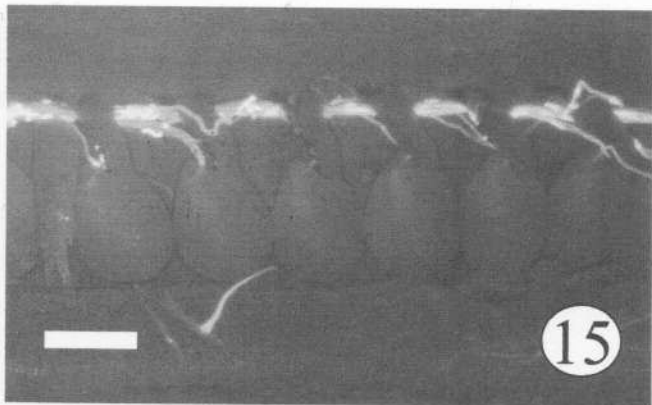
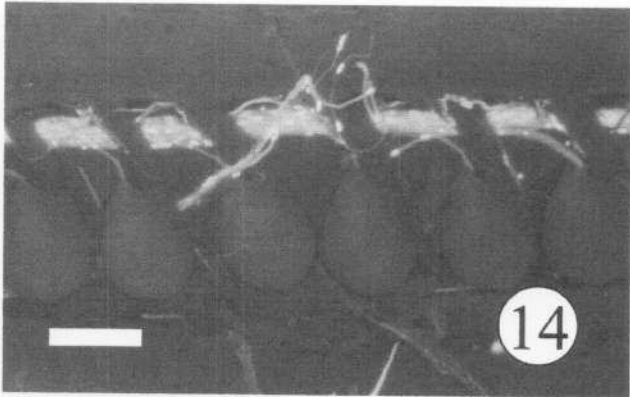
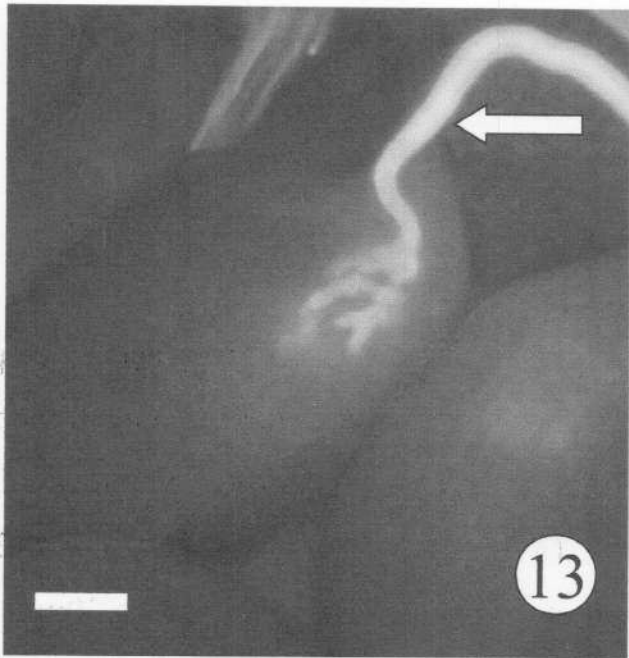
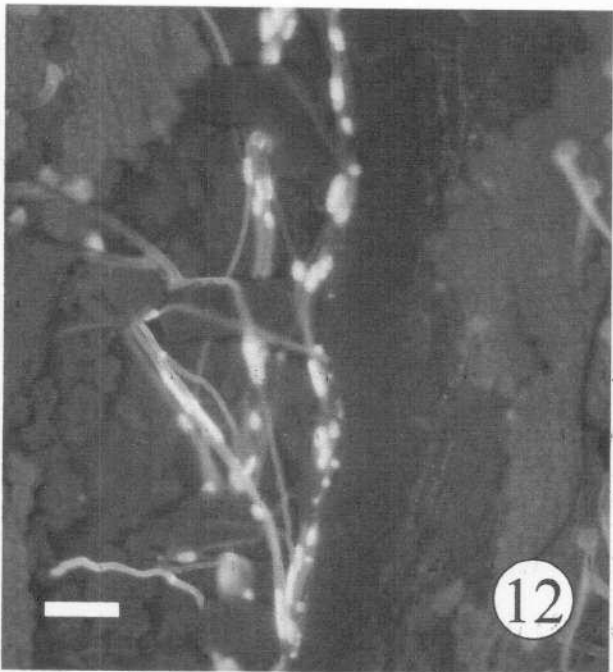
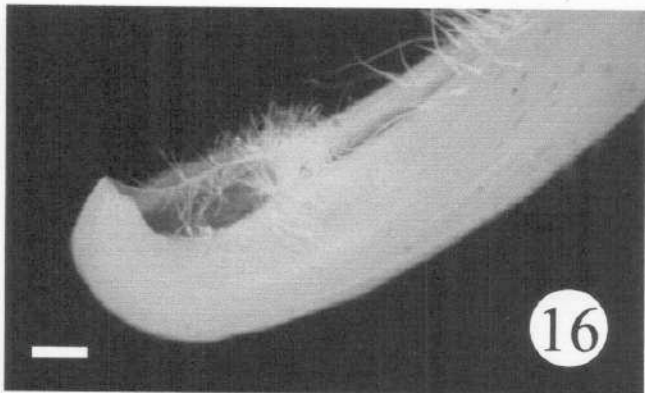
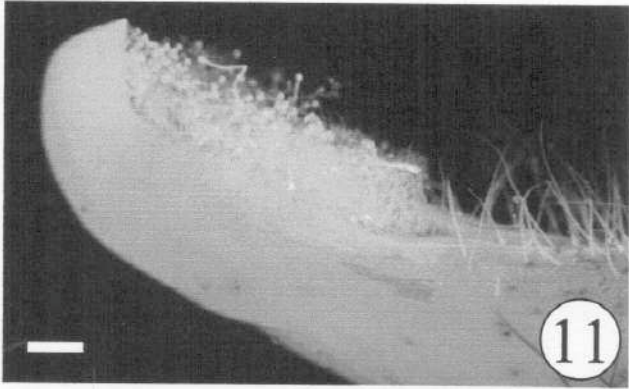
Os testes de polinizações manuais controladas, mostraram que *S. sylvestris* é uma espécie auto-incompatível (Tabela 1), com um índice de autoincompatibilidade (ISI *sensu* Bullock 1985) de 0,06. Somente frutos de polinizações cruzadas se desenvolveram perfeitamente até a maturação.

Nos testes de microscopia de fluorescência, observaram-se um grande número de tubos polínicos germinando 48 h após as polinizações manuais, tanto em autopolinizações (n= 5 pistilos) quanto em polinizações cruzadas (n=5 pistilos). Ambos testes mostraram tubos polínicos se desenvolvendo até o ovário, penetrando nos óvulos (FIGURA 11-15). Não foram vistos tubos polínicos ao longo do estilete 24 h após a manipulação das flores. Durante os testes, um fruto de autopolinização se desenvolveu, mas não parecia ser tão vigoroso quanto os outros frutos.

Tabela 1. Resultado dos testes de polinizações controladas, realizados em *Senna sylvestris*

Tratamentos	Flores (n)	Frutos Formados (n)	%
Polinização Cruzada	83	20	24,09
Autopolinização Manual	71	1	1,40
Autopolinização Automática	36	0	0
Agamospermia	34	0	0
Controle	212	3	1,42

ISI= 0,06 (Calculado pela razão entre os percentuais de formação de frutos de autopolinizações e polinizações cruzadas *sensu* Bullock 1985)



DISCUSSÃO

BIOLOGIA FLORAL

S. sylvestris apresenta aspectos morfológicos semelhantes aos de outras espécies da subtribo *Cassiinae* (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988). No entanto, diferente de *S. sylvestris*, as espécies *Cassia leptophylla*, *C. moschata* e *Senna pendula* apresentam os estames maiores e filetes mais desenvolvidos. Todas elas diferem entre si pelo tamanho de suas flores e também pelo comprimento do gineceu.

Em *C. leptophylla*, *C. moschata* e *S. pendula* o gineceu acompanha o tamanho do androceu, estando o estigma posicionado no mesmo nível dos poros apicais das anteras, fato que também pode ser encontrado em *S. sylvestris*. Uma extrema diferenciação ocorre em *S. surattensis*, *S. obtusifolia* e *S. rugosa*, onde os pistilos são mais compridos e o filete das anteras são curtos.

O pistilo esta bem acima da abertura apical das anteras, são curvos e voltados na direção as anteras (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988).

Em *S. sylvestris*, o pistilo estando no mesmo nível das anteras maiores e, a abertura apical estando posicionada na mesma altura do estigma, pode facilitar a recepção de pólen.

Outras adaptações como estigma papiloso com forma crateriforme, e pêlos ao longo do pistilo, vem sido descritas como características que podem otimizar a reprodução das Caesalpiniaceae (Owens 1989) (FIGURA 16). Essas características podem estar também favorecendo *S. sylvestris* e, de uma maneira geral as *Cassiinae*. Na verdade, a definição do estigma como crateriforme requereria uma análise histológica mais refinada, que não foi feita no presente trabalho. Como as outras *Cassiinae* o estigma em *S. sylvestris* é do tipo úmido papiloso (Owens 1989, Dulberger et al. 1994).

A heterântheria observada em *S. sylvestris* é comum em outras espécies de *Cassiinae* (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988). Esta característica pode favorecer dois tipos de utilização do pólen: um grupo de estames para alimentação dos visitantes e outro para polinização (Vogel 1978).

Em *Swartzia pickelii* subtribo *Swartziae*, por exemplo, as diferenças nos estames são claras quando comparadas as *Cassiinae* (Lopes & Machado 1996). Em *S. sylvestris* os estames são diferentes de *S. pickelii*, na medida que o grupo de anteras menores (de alimentação) funciona apenas como atrativo ou como ponto de fixação da abelha durante as visitas. O pólen produzido pelos estames

menores em *S. sylvestris*, não parece ser utilizado nem para alimentação, nem para a polinização efetiva, sendo até certo ponto dispensável durante as visitas. É interessante notar que foram evidenciadas diferenças na densidade do citoplasma e no tamanho entre os grãos de pólen das anteras pequenas e maiores, sugerindo que possam existir diferenças de viabilidade ou vigor. Testes de germinação dos grãos de pólen são necessários para confirmar tais diferenças.

As flores de *S. sylvestris* apresentam apenas pólen como recompensa. A morfologia, assim como nas flores do tipo *Solanum* pode ser considerada mais evoluída, quando comparada com as flores do tipo *Magnolia* e do tipo *Papaver* que não apresentam anteras poricidas (Vogel 1978).

As anteras poricidas se constituem em especializações que podem proporcionar uma economia, proteção e eficiência à polinização das *Cassiinae*. Por exemplo, com floração concomitante com os meses mais chuvosos (dezembro - abril), *S. sylvestris* poderia ter uma perda de recursos alocados na produção dos grãos de pólen. Anteras poricidas poderiam funcionar como mecanismos de proteção para estes grãos até que as flores fossem visitadas pelos polinizadores.

As pétalas possuem cores bastante conspícuas, o que as torna um atrativo visual bastante evidente. No Cerrado, flores que são visitadas por abelhas melitófilas coletoras exclusivas de pólen, apresentam cores bastantes atraentes e, em sua maioria, essas flores possuem anteras com deiscência poricida

(Silberbauer-Gottsberger & Gottsberger 1988). A posição dos estames e a heteranteria discutida acima, conferem a flor uma simetria zigomorfa. A zigomorfia tem papel fundamental na atração dessas abelhas. As pétalas de *S. sylvestris* apresentam um padrão de simetria semelhante a outras *Cassiinae* (Silberbauer-Gottsberger & Gottsberger 1988).

As *Cassiinae* em sua maioria, são visitadas por abelhas grandes que conseguem vibrar as peças florais fazendo com que o pólen fique depositado em seu dorso. A forma de polinização recebe o nome de "buzz pollination" (Buchmann 1983) devido ao comportamento dos visitantes de vibrarem as anteras ou outras estruturas florais (Brittrich et al. 1993) para a retirada de pólen, produzindo som característico.

Nessas espécies os insetos visitantes são abelhas do gênero *Xylocopa*, *Centris*, *Epicharis*, *Bombus*, *Oxaea* e *Augochloropsis*, todas muito comuns em plantas com deiscência poricida. No momento das visitas, esses insetos podem tocar o estigma das flores, devido a posição do pistilo em relação as anteras, promovendo assim a polinização.

Abelhas do gênero *Augochloropsis*, são os principais polinizadores de *S. sylvestris* no entanto, essas abelhas são pequenas. O comportamento de vibração formando uma nuvem de grãos de pólen que eventualmente cairiam no estigma facilita a autopolinização. Seria necessário então que a abelha com o corpo sujo com pólen de outros indivíduos contatasse o estigma para que houvesse a realização de polinizações cruzadas.

Com tal comportamento, *Augochloropsis* sp. apesar de ser o visitante mais freqüente, parece ser ineficiente na polinização. Isto explicaria o baixo "fruit set", isto é, o número de frutos que se formam em condições naturais. Abelhas *Augochloropsis* sp. estão intimamente ligadas aos processos de polinização em *Mirciaria tenella* e *Unonopsis lindimannii* (Tomé 1998) bem como em outras espécies de Mytaceae na EEP (Oliveira 1999). O número ineficiente e populações pequenas dessas abelhas vem sendo discutidos como fatores que estariam determinando a baixa eficiência na produção de frutos nas plantas estudadas nas matas da EEP (Tomé 1998).

A ausência de abelhas grandes em *S. sylvestris*, polinizadores usuais de espécies de *Cassiinae*, pode ser devida a condições do local de estudo. A fragmentação de habitats em torno da EEP pode estar comprometendo as interações existentes entre plantas e insetos, o que pode prejudicar a estabilidade e a permanência de polinizadores mais eficientes na área de estudo.

BIOLOGIA REPRODUTIVA

S. sylvestris é uma espécie auto-estéril e não apomítica, o sistema reprodutivo de *S. sylvestris* se compara aos dados já encontrados para espécies lenhosas de cerrados e matas do Brasil Central (Oliveira 1991). A xenogamia obrigatória garante que a freqüência e a variabilidade genética da população se mantenham altas.

Estudos em florestas tropicais na Costa Rica têm mostrado a importância de mecanismos de recombinação genética para manutenção das espécies lenhosas (Bawa 1974, Bawa 1990).

Senna sylvestris é uma espécie que apresenta um sistema reprodutivo envolvendo fenômenos de auto-esterilidade ovariana ou tardia (Sage et al. 1994), ao contrario da auto-incompatibilidade clássica onde o crescimento dos tubos polínicos é interrompido no estigma ou estilete (Nettoncourt 1977 *apud* Santos 1997, Gibbs 1990, Gibbs et al. 1999). Em *S. sylvestris* não há evidências de deposição de calose que interromperiam o crescimento dos tubos polínicos.

Os mecanismos de auto-esterilidade ovariana ocorrem após a fertilização dos óvulos e não existe diferença no crescimento dos tubos polínicos. Estes fenômenos tem sido descritos para espécies de leguminosas de uma maneira geral (Seavey & Bawa 1986) e para muitas Caesalpiniaceae tropicais (e.g. Lewis & Gibbs 1998; Gibbs et al. 1999). Só após a fertilização dos óvulos haveria o aborto dos frutos provenientes de autopolinizações. Porém, Bawa (1974) destaca que em espécies auto-incompatíveis, como *S. sylvestris*, podem ocorrer quebras nos sistemas de autoincompatibilidade e formação de frutos por autopolinização.

Os sistemas reprodutivos em espécies de *Senna*, até o momento estudadas, variam de autocompatíveis (Ormond et al. 1996) até incompatibilidade de ação tardia (presente estudo), evidenciando a importância do conhecimento dos processos reprodutivos para as espécies do

gênero. No entanto, são necessários mais estudos para tentar esclarecer como ocorre a seleção desses pistilos que vão ser eliminados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

S. sylvestris é uma espécie auto-incompatível e não apomítica que depende de polinização cruzada para a produção de frutos e reprodução de uma maneira geral. A baixa formação de frutos e ineficiência durante a polinização pode limitar a propagação e manutenção das populações da espécie na área de estudo.

A estrutura e a formação das comunidades florestais é complexa, mostrando que são constituídas por plantas muito bem adaptadas as condições ambientais do cerrado.

Ações de manejo e preservação destas áreas devem ser intensificadas, pois na velocidade em que os processos de degradação vem aumentando nos últimos anos, estamos perdendo informações importantes sobre este bioma. O presente estudo sobre *S. sylvestris* pode gerar subsídios para a conservação desta e de outras espécies florestais do Brasil Central.

Referências bibliográficas*

- ARROYO, M.T.K. 1981. Breeding Systems and pollination biology in Leguminosae. In: Advances in Legume Systematics (R.M. Polhil, & P.H. Raven, eds.) (Part. 2). Royal Botanic Gardens, Kew, p.723-769.
- BARBOSA, A.A.A. 1997. Biologia Reprodutiva de uma comunidade de Campo Sujo, Uberlândia MG. Tese de Doutorado, Universidade de Campinas, Campinas.
- BAWA, K.S. 1974. Breeding system of tree species of a lowland tropical communit. Evolution 28:85-92.
- BAWA, K.S. 1990. Plant-Pollination Interactions in tropical Rain Forest. Annu. Rev. Ecol. Syst. 20: 399-422.
- BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E., and MELO, G.A.R. 1993. Pollination biology of *Ternstroemia leviagata* and *T. dentata* (Teaceae). Plant Syst. Evol. 185: 1-6.

- BUCHMANN, S.L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms In Handbook of experimental pollination biology (C.E. Jones,; R.J. Little, eds.). Van Nostrand Scientific and Academic Editions, New York p. 73-113.
- BULLOCK, S.H. 1985. Breeding systems in the flora of tropical deciduos forest in México. *Biotropica* 17 (4): 287-301.
- DAFNI, A. 1992. Pollination ecology. A practical approach. Oxford University Press. New York.
- DULBERGER, R. & SMITH, & BAWA, K.S. 1994. The Stigma orifice in *Cassia*, *Senna* and *Chamaecrista* (Caesalpiniaceae): Morfological variation, function during pollination, and posible adaptive significance,. *Amer. J. Bot.* 81 (11): 1390-1396.
- EITEN, G. 1994. Vegetação do Cerrado In Cerrado: caracterização e perspectivas (M.N. Pinto, Coord.). 2. ed. Brasília: UNB/ SEMATEC. p. 9-65.
- ENDRESS, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press. Cambridge.
- GIBBS, P. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revta. Brasil. Bot.* 13: 125-136

- GIBBS, P.E.; OLIVEIRA, P.E. & BIANCHI, M.B. 1999. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stignocarpa* (leguminosae-Caesalpinoideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. *Int. Jour. Plant Sci.* 160 (1): 72-78.
- GOTTSBERGER, G. & SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. 1988. Evolution of flower structures and pollination in Neotropical *Cassinae* (Caesalpiniaceae) species. *Phyton* 28 (2): 293-320.
- KEARNS, C.A., INOUE, D.W. 1955. Techniques for pollination biologist. Niwot, Colorado.
- LEWIS, G.P. & GIBBS, P.E. 1999. Reproductive biology of *Caesalpinia calycina* and *C. pluviosa* (Leguminosae) of the caatinga of Brasil. *Plant Syst. Evol.* 217: 43-53.
- LOPES, A.V.F.E. & MACHADO, I.C.S. 1996. Biologia floral de *Swartzia pickelli* (Leguminosae-Papilionideae) e sua polinização por *Eulaema* spp. (Apidae-Euglossinae). *Revta brasil. Bot.* 19 (1):17-24.
- MARTIN, F.N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Tech.* 34: 125.
- MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; JUNIOR, M.C.S.; RESENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. 1998. Flora vascular do Cerrado. In *Cerrado: ambiente e flora* (S.M. Sano, & S.P. Almeida, eds.). Embrapa-CPAC, Brasília.

- OLIVEIRA, P.E.A.M. 1991. The pollination and reproductive biology of a cerrado woody community in Brazil. PhD. Thesis, University of St. Andrews, St. Andrews.
- OLIVEIRA, P.E.A.M. 1998. Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de Cerrado. In Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano, & S.P. Almeida, eds.) Embrapa-CPAC, Brasília p. 169-188.
- OLIVEIRA, G.M. 1999. Biologia Reprodutiva de plantas de matas de galeria. Relatório de final de bolsa de aperfeiçoamento CNPq.
- ORMOND, W.T., SILVA, A.L.G., CORREIA, M.C.R. 1996. Biologia floral de *Senna australis* (Vell.) I & B (Leguminosae). In resumos do XLVII Congresso Nacional de Botânica (SBB) Nova Friburgo, Rio de Janeiro p.403.
- OWENS, S.J. 1989. Stigma, Style, and the Pollen-Stigma interaction in Caesalpinioideae. In Advances in Legume Biology (C.H. Stirton, & J.L. Zarucchi, eds.) Monog. Syst. Missouri Bot. Gard. v. 29, p. 113-126.
- RADFORD, A.E.; DICKSON, W.C.; MASSEY, J.R. AND BELL, C.R. 1974. Vascular plant systematics. Harper and Row, New York.
- RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. 1998. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano, & S.P. Almeida, eds.). Embrapa-CPAC, Brasília.

- SAGE, T.L., BERTIN, R.I., & WILLIAMS, E.G. 1994. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. In Genetic control of self-incompatible and reproductive development in flowering plants (E.G. Williams, A.E. Clarke, & R.B. Knox eds.). Kluwer Academic Publishers, Netherlands. p. 116-140.
- SANTOS, M.L. 1997. Biologia floral de duas espécies de Vochysiaceae em um cerrado sobre afloramento basáltico em Araguari, MG. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília - DF.
- SCHIAVINI, I. & ARAÚJO, G.M. 1989. Considerações sobre a vegetação da Reserva Ecológica do Panga (Uberlândia). Sociedade e Natureza v.1, parte 1, p.61-66.
- SEAVEY, S.R. & BAWA, K.S. 1986. Late-acting self-incompatibility in angiosperms. Bot. Rev. 52: 195-219.
- SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I & GOTTSBERGER, G 1988. A polinização de plantas do Cerrado. Rev. Brasil. Biol. 48: 651-663
- TOMÉ, C.E.R. 1999. Fenologia e biologia reprodutiva de espécies de subosque de matas de galeria do Brasil Central. Monografia de Bacharelado. UFU. Uberlândia.

VOGEL, S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers.
In: The pollination of flowers by insects (A.J. Richards, ed.). Linn. Soc.
London, Academic Press, London.

* As referências Bibliográficas seguem as normas da Revista Brasileira de
Botânica vol. 22(1) 1999.